

小麦单基因系 TcLr19 抗叶锈防卫反应的表达与叶锈菌侵染进程关系的初步研究

阎爱华^{1,2} 张立峰³ 张韞玮³ 刘 猛³ 侯春燕³ 王冬梅³

(1. 河北农业大学 林学院 河北 保定 071000; 2. 河北林木种质资源和森林保护重点实验室 河北 保定 071000;
3. 河北农业大学 生命科学院 河北 保定 071000)

摘要: 试验采用小麦单基因系 TcLr19 感病对照 Thatcher (Tc) 及叶锈菌小种 366 和 165, 利用组织化学方法, 对接种后不同时间点叶锈菌在亲和和不亲和寄主上的发育情况进行观察, 并对表现不同侵染型的 TcLr19-叶锈菌组合中的 2 种防御酶苯丙氨酸解氨酶(PAL) 和过氧化物酶(PO) 的活性变化及发生过敏性死亡(HR) 的细胞面积进行测定。结果表明, 伴随着叶锈菌的侵染, TcLr19 接种叶锈菌小种 366(侵染型为 0;) 后 PAL 的活性分别在 24、72 h 出现高峰, PO 活性在 48 h 达到最高峰, 发生 HR 的细胞面积从接种后 24 h 逐渐增加直至 96 h 达到高峰; 而接种叶锈菌小种 165(侵染型为 1) 后 2 种酶活性变化及 HR 的变化和接种 366 具有相同趋势, 但是前者的酶活性峰值低于后者, 且发生 HR 的面积在 96 h 之前一直也小于后者。小麦对叶锈菌的抗性表达程度与防卫反应的表达强度呈正相关关系。

关键词: TcLr19; 叶锈菌; 苯丙氨酸解氨酶; 过氧化物酶

中图分类号: S435.121 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2013)01-0221-06

Relationship between the Activity Changes of Defense Enzymes of Wheat Near Isogenic Line TcLr19 and the Infection Process of *Puccinia triticina*

YAN Ai-hua^{1,2} ZHANG Li-feng³ ZHANG Yun-wei³ LIU Meng³,
HOU Chun-yan³ WANG Dong-mei³

(1. College of Forestry, Agriculture University of Hebei, Baoding 071000, China; 2. Key Lab of Genetic Resources of Forest and Forest Protection of Hebei Province, Baoding 071000, China;
3. College of Life Science, Agricultural University of Hebei, Baoding 071000, China)

Abstract: The resistance gene was activated after the wheat was infected by *Puccinia triticina*, and the metabolism activity of related resistant materials was strengthened then. This article was aimed to reveal the relationship between the activity changes of defense enzymes of wheat near isogenic line (NIL) TcLr19 and the infection process of *Puccinia triticina*. The infection processes on wheat NIL TcLr19 of the leaf rust race 366 and 165 were observed by fluorescent staining. According to that result, the activity changes of PAL and PO were determined when the TcLr19 was inoculated with 366 (infection type was 0;) and 165 (infection type was 1) at different times. The results showed that there were two activity peaks of the PAL in TcLr19 at 24 h and 72 h after inoculated by leaf rust race 366, and the PO activity peak appeared at 48 h. During this time, cell area undergoing HR was raising from 24 hpi until 96 hpi. While there was a same tendency on the combination of 165 and TcLr19. But all of the numbers were lower than the other combination. The resistance of wheat to leaf rust fungus was positively correlative with the expression strengthen of defence reaction.

Key words: TcLr19; *Puccinia triticina*; PAL; PO

收稿日期: 2012-10-22

基金项目: 国家自然科学基金 (31171472); 高等学校博士学科点专项科研基金资助课题 (优先发展领域 20111302130001); 河北省应用基础研究计划重点基础研究项目 (12967149D); 河北省自然科学基金 (C2010000787)

作者简介: 阎爱华 (1980-), 女, 河北邯郸人, 助理研究员, 博士, 主要从事植物抗病虫机制研究。

通讯作者: 王冬梅 (1963-), 女, 河北景县人, 教授, 博士生导师, 主要从事植物抗逆分子细胞生物学研究。

当病原菌入侵植物时,寄主往往会产生过敏反应(Hypersensitive response, HR)来抑制病原菌在体内的生长。这个过程涉及寄主体内一系列生理生化指标的变化,其中,防御酶的变化在寄主抗病性表达中起着极其重要的作用^[1]。苯丙氨酸解氨酶(PAL)是植物苯丙烷类次生代谢途径的关键酶和限速酶,它催化 L-苯丙氨酸(L-Phe)经由非氧化脱氨反应,生成反式-肉桂酸(t-CA)和氨,从而影响木质素的合成^[2]。在对水稻抗白叶枯病菌和丝核病菌^[3-4]的侵染机理以及枣树抗枣疯病的机理研究^[5]中, PAL 活性都有显著升高,认为 PAL 活性与寄主抗性表达呈正相关。过氧化物酶(PO)可以清除植物体内由病原菌胁迫产生的自由基。河北林木种质资源和森林保护重点实验室王智炘和刘娟等^[6]对小麦与叶锈菌组成的亲和与不亲和体系的研究表明,抗病品种感染叶锈菌后,苯丙氨酸解氨酶和过氧化物酶活性的增高幅度明显大于感病品种。因此,这 2 种酶被作为小麦苗期抗叶锈性筛选的生理生化指标。

小麦抗叶锈性的表现与防卫反应表达的时空强度有关,小麦抗叶锈基因是在诱导植物产生 HR 的信号传导网络的起始步骤起作用,而防卫相关基因的表达与否和防卫反应表达的强度才是对植物抗病性起关键作用的因素^[7]。目前,以 PAL 和 PO 这 2 种防御酶作为指标,对不同植物与相应病原物形成的抗、感组合之间表达差异的研究工作已有大量报道,但这种防卫基因的表达差异是否也存在于抗病程度不同的组合之间,即在不同抗性表现型的寄主上的表达程度是否也有不同,目前还没有报道。而且,之前试验所用植物材料遗传背景复杂且具有多个抗性基因,不能完全可靠地反映抗病基因介导的防卫反应机制。因此,本试验选用含有高度抗叶锈性基因 *Lr19*(迄今仍未发现与 *Lr19* 表现亲和互作的叶锈菌小种)的小麦单基因系 TcLr19 及其感病亲本 Thatcher(Tc)为试材,2 个叶锈菌小种 366 和 165 均与 TcLr19 形成已知抗性表现不同的不亲和组合,而与 Tc 形成亲和组合。采用生物化学手段并辅以荧光显微镜观察,通过对供试品系接种后不同时间点防御酶 PAL、PO 的活性变化进行测定、不亲和组合中寄主细胞发生 HR 的细胞面积进行测量以及不同组合中叶锈菌侵染进程的组织学观察,以期对抗叶锈防卫反应的表达与寄主抗叶锈的表现型之间的关系进行探讨,这对深入了解由抗病基因介导的植物防卫反应在寄主抗病性表达中的作用机制具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 供试小麦品种、菌种

小麦选用抗叶锈单基因系 TcLr19 及其亲本 Thatcher(Tc)。叶锈菌生理小种选用 366 和 165(均为单孢菌系)。TcLr19 与小种 366 和 165 均形成不亲和组合,表现型分别为 0₁ 和 1₁ 型,Tc 和 2 个小种均形成亲和组合。利用感病品种 5389 繁殖所需菌种的夏孢子。麦苗培育、菌种繁殖和接种方法均采用常规方法^[7]。

1.2 荧光染色制片

分别在接菌后 2、4、8 h 取小麦叶片在光镜下观察孢子萌发情况。在接菌后 12、24、48、96、360 h 取小麦叶片制备荧光染色制片,不同时间点各取 2~4 株,将接种叶片弃去叶尖和下部后切成长约为 1.5 cm 的叶段。按祁艳等^[7]的方法制备荧光染色制片,设置 3 组重复。制片在荧光显微镜下用紫外光观察,健康寄主细胞呈淡绿色,侵染引致发生过敏性反应(HR)的细胞呈现亮黄色荧光。观测时,每种处理随机选取 100 个侵染点,测量每个侵染点处寄主细胞发生过敏性反应的面积,并采用 NCSS 统计软件进行数理统计。

1.3 苯丙氨酸解氨酶(PAL, EC. 4.3.1.5)活性测定

按照吴岳轩等^[3]的方法测定,具体如下。称取 0.2 g 小麦叶片放入预冷研钵中,加入 4 mL 酶提取液,研磨成匀浆状,后转入 5 mL 离心管,4℃,13 000 g 离心 30 min,上清液用酶提取液定容至 4 mL。取 0.3 mL 上述溶液加 0.02 mol/L 苯丙氨酸溶液 1 mL 和 0.05 mol/L Tris-H₂SO₄(pH 值 8.8)缓冲液 2.5 mL,40℃水浴保温 1 h 后加入 0.8 mL 6 mol/L HCl 以终止反应,测定其 OD₂₉₀ 值。定义酶活力单位为 OD₂₉₀ 每变化 0.01 为 1 U,酶活力为酶提取液中酶的总活力单位数/酶提取液中总蛋白含量(U/μg)。

1.4 过氧化物酶(PO, EC. 1.11.1.7)活性测定

按照王智炘等^[6]的方法测定。称取 0.2 g 小麦叶片放入预冷研钵中,加入 0.1 mol/L Tris-HCl(pH 值 8.0)4 mL,在冰上研磨。4℃,9 000 g 离心 15 min,取上清液,定容至 5 mL,取出 50 μL,依次加入磷酸缓冲液(0.05 mol/L, pH 值 7.0)2 mL、愈创木酚(0.1%)1 mL、0.08% H₂O₂ 1 mL 迅速混匀。在 470 nm 处测定吸光值变化量,连续读取 3 个 1 min 的 OD₄₇₀ 值,分别记录数据。定义酶活力为 1 min 内 OD₄₇₀ 的变化值/酶提取液中总蛋白含量(ΔOD/(μg·min))。

1.5 样品蛋白质含量测定

样品蛋白质含量测定选用考马斯亮蓝 G-250

法^[8]。

2 结果与分析

2.1 叶锈菌小种对供试小麦的侵染型

小麦单基因系 TcLr19 带有高度抗叶锈基因 *Lr19*, 至今未发现能与之形成亲和组合的叶锈菌小种。本试验采用的 2 个叶锈菌小种 366 和 165 与 TcLr19 均组成不亲和组合, 但表现不同的侵染型。根据 Roelf 的分类方法, 在接种 14 d 后, TcLr19 与 366 组合产生很微弱的坏死或退绿斑点, 侵染型表现为 0; 而与 165 组合产生退绿斑, 同时产生个别小型的孢子堆, 周围有坏死斑存在, 侵染型表现为 1^[9]。在模拟接种的叶片上没有病症出现, 而 Tc 接种 366 和 165 后都长出了大量孢子堆, 表现出典型的感病症状, 侵染型为 4 (图 1)。



图 1 供试小麦接种不同叶锈菌小种后的侵染型
Fig. 1 Different phenotypic reactions of the wheat to different races of *Puccinia triticina*

2.2 叶锈菌侵染小麦后不同时间点的组织学观察

2.2.1 叶锈菌侵染小麦后的早期组织学观察 接种后 4~8 h, 叶锈菌在叶片表面萌发产生芽管, 在光学显微镜下统计不同组合间的孢子萌发率和芽管长度均无明显差异 (图 2-A, B)。接种后 12 h, 无论是亲和组合还是不亲和组合, 均能够观察到夏孢子萌发后产生的附着胞及气孔下囊泡和初生侵染菌丝 (图 2-C, D)。

2.2.2 叶锈菌侵染小麦后不同时间点的组织学观察 在亲和组合中, 从接种后 24~96 h, 小麦叶锈菌发展速度很快, 在 24 h 时就观察到大量次生菌丝 (图 3-A); 从接种后 48 h 到接种后 72 h, 菌丝已有多次分枝, 由于菌丝互相交织已无法记录分枝数 (图 3-B); 到接种后 96 h, 部分菌落中心已由产孢菌丝聚集形成网格状的夏孢子床 (图 3-C); 在菌丝体的整个扩展过程中, 菌落一般成椭圆形, 长径与叶脉平行, 说明菌落的扩展受叶脉的限制, 在接种后 15 d 能够观察到大量孢子堆 (图 1-D)。在不亲和组合

中, 接种后 24 h 在 TcLr19 叶片上 (无论是接种叶锈菌小种 366 或 165) 均可观察到大量发生过敏性反应的细胞 (图 3-D, G 中亮黄色荧光部分, 箭示); 从接种后 48 h 开始, 366 小种的菌丝基本停止了扩展 (图 3-E, F), 观察不到像亲和组合中那样发育迅速的次生菌丝 (图 3-B), 接种后期既无菌落的形成, 更没有产生夏孢子 (图 1-B), 属于典型的早期败育, 这直接反映了 TcLr19 对叶锈菌小种 366 的高度抗性, 在接种后 15 d 接种叶片 (图 3-K) 与模拟接种叶片 (图 3-J) 间无区别。而 165 小种的部分菌丝仍然能够在 TcLr19 中扩展 (图 3-H, I, L), 并在接种 15 d 后在叶表面形成小型孢子堆 (图 1-C)。

上述结果表明, 表现不同侵染型的小麦和叶锈菌小种组合中菌的发育进程也是不同的, 这一结果与 Lin 和 Huang^[10-11] 关于菌落发育的研究结果相似, 这可能与寄主的抗性表达强度以及菌对寄主抗性表达的限制或抑制程度不同有关。接下来, 我们对上述不同组合中的防卫反应的表达进行了观察与测定。

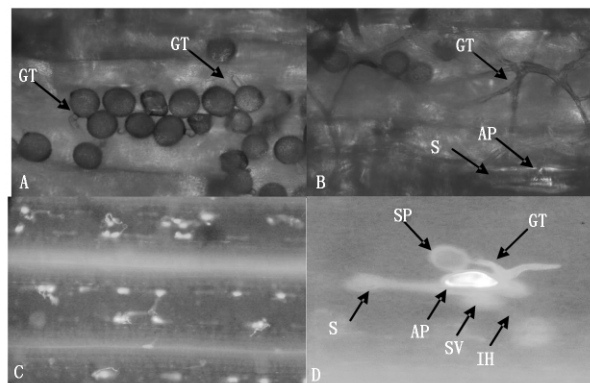


图 2 叶锈菌小种 366 在 TcLr19 上的发育观察
Fig. 2 The development of race 366 of *Puccinia triticina* on TcLr19

2.3 接种后不同时间点 HR 的荧光观察

根据荧光染色的结果统计小麦叶片发生过敏性反应的面积 (图 4)。结果表明, TcLr19 接种 366 后, 从 24 h 时开始, 随着侵染时间的延长, 叶片产生 HR 的面积逐渐加大, 到 96 h 时达到顶峰; 而接种 165 的叶片从 24 h 时开始, 随着侵染时间的延长, 叶片产生 HR 的面积也呈逐渐增加的趋势, 但每个时间点的 HR 面积都比 TcLr19-366 组合小, 在接种后 96~120 h HR 面积仍然有扩大的趋势, 说明在 96 h 之前

细胞的过敏性死亡未能限制住菌丝的扩展。小麦感染叶锈菌后发生 HR 是寄主表现抗性的主要防卫反应^[1]。本试验中 TcLr19 接种叶锈菌小种 165 后早期

所表达的 HR 没有 TcLr19-366 组合强,可能是导致其侵染型表现“1”的原因之一。在 Tc 与 2 个供试小种形成的亲和组合中始终没有产生 HR。

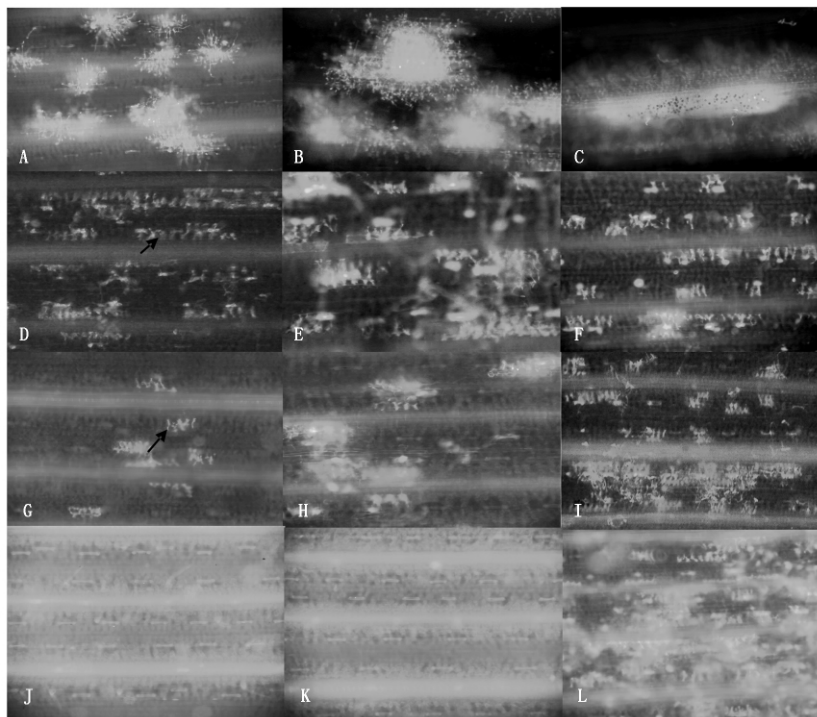


图 3 接种后不同时间对不同组合的组织学观察
A - C. Tc 接种叶锈菌小种 366 后 24 48 96 h (100 ×); D - F. TcLr19 接种叶锈菌小种 366 后 24 48 96 h (100 ×); G - I. TcLr19 接种叶锈菌小种 165 后 24 48 96 h (100 ×); J. 模拟接种后 15 d; K. TcLr19 接种叶锈菌小种 366 后 15 d; L. TcLr19 接种叶锈菌小种 165 后 15 d。
A - C. Tc inoculated with 366 24 48 96 h (100 ×); D - F. TcLr19 inoculated with 366 24 48 96 h (100 ×); G - I and L. TcLr19 inoculated with 165 hpi 24 48 96 h and 15 d (100 ×); Arrow means cells undergoing HR; J. Mock (15 d); K. TcLr19 inoculated with 366 15 d; L. TcLr19 inoculated with 165 15 d.

图 3 接种后不同时间对不同组合的组织学观察

Fig. 3 The development of different races of *Puccinia triticina* on wheat at different times by fluorescent staining

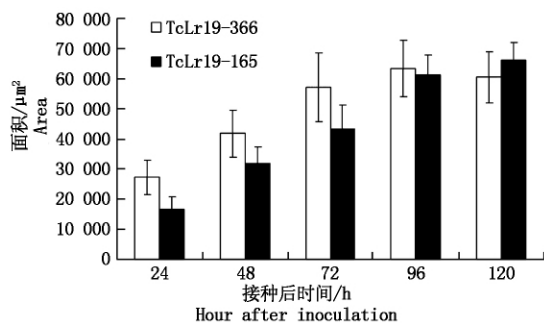


图 4 TcLr19 接种不同叶锈菌小种后的 HR 面积

Fig. 4 The cell area undergoing HR of TcLr19 inoculated with different leaf rust fungus

2.4 PAL 活性测定

在接种后不同时间,对各组合叶片进行 PAL 活性测定,结果见图 5。接种后前期(8~16 h),不同组合间的苯丙氨酸解氨酶活性变化相差不大。从 16 h 之后,未接菌的 Tc 和 TcLr19 的 PAL 曲线较为平直,只在后期(接种后 72 h)略有升高。而接菌的各处理 PAL 酶活性开始升高:首先在亲和组合中,接种后 Tc 的 PAL 活性变化呈现缓慢上升的趋势,且接种不同小种叶片间的 PAL 活性几乎无差异;而在 2 个不亲和组合中,在接种后 24 h PAL 均出现了

第 1 个活性峰,而后在 72 h 出现了第 2 个活性峰,但是在第 1 个活性峰处,接种小种 366 的叶片 PAL 峰值明显高于接种 165,但在接种后 72 h 2 个组合形成的第 2 个 PAL 峰值没有差异,之后 2 个组合的 PAL 活性显著下降。

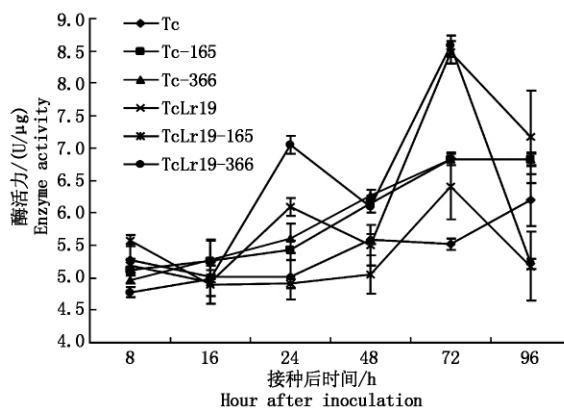


图 5 不同小麦品系接种后苯丙氨酸解氨酶活性变化

Fig. 5 The PAL activity changes of different wheat species after inoculated with leaf rust fungus

2.5 PO 活性测定

在接种后不同时间,对各组合叶片进行了 PO 活性测定,结果见图 6。总体来看,在整个侵染的过

程中接菌处理的过氧化物酶的活性始终高于不接菌。同时,随着时间延长,接菌和未接菌的 Tc 的 PO 活性变化幅度很小,都只是略微地升高,没有出现明显的活性峰。而在接种后早期(8~24 h) TcLr19 各处理过氧化物酶的活性变化也较为平稳,但在 48 h 时出现过氧化物酶的活性峰,且接种叶锈菌小种 366 处理的酶活性显著高于接种 165 的处理,之后酶活性降低,甚至两组合间 PO 活性达到同一水平。但这种关系在 96 h 时正相反。

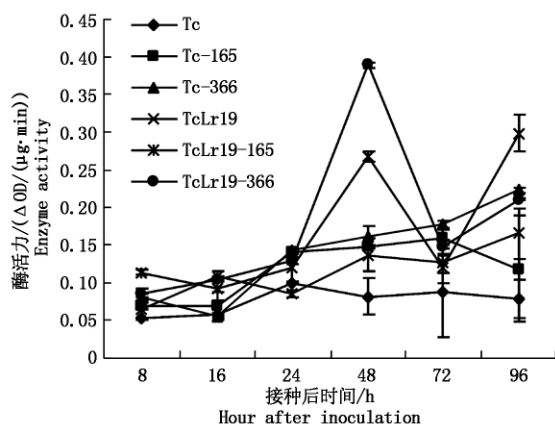


图 6 不同小麦品系接种后过氧化物酶活性的变化

Fig. 6 The PO activity changes of different wheat species after inoculated with leaf rust fungus

3 讨论

病原菌侵染会诱导植物产生一系列生理生化反应,主要包括植保素等次生产物的合成^[12-13]及 β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶等病原相关蛋白的激活^[14]、富含羟脯氨酸蛋白在细胞壁中的积累以及木质素的沉积^[15]等。而这些物质的生成与抗性相关酶的活化有着密不可分的关系^[16]。一般来说,植物受到病原菌侵染后, PAL 活性升高,抗病品种受到病原菌诱导所产生的 PAL 活性远比感病品种高^[17-18]。已有报道表明,不同的植物和不同抗病基因背景的同种植物在抵抗病原菌侵染时防御酶系的变化规律不同^[19]。王冬梅^[20]的研究中,小麦抗叶锈单基因系 TcLr3 在受到叶锈菌侵染后过氧化物酶活性出现单峰曲线,而 TcLr26 则呈现双峰型。在本试验中, TcLr19 与叶锈菌小种 366 组合的表现型为 0₂ 型,而与小种 165 为 1 型,这意味着 TcLr19 对小种 366 较 165 有较高的抗性。试验通过对各种组合的 PAL 和 PO 活性测定结果表明, Tc 与 2 个供试小种形成的亲和组合中酶的活性变化在接种后前期(24 h)几乎与未接种对照间没有差异,而在后期(48~96 h)略有升高。TcLr19 与 2 个小种形成的 2 个不亲和组合,无论是苯丙氨酸解氨酶还是过氧化物酶的活性变

化,趋势基本相同,但 TcLr19 接种叶锈菌小种 366 后的酶活性峰值却高于接种 165。Matthias 和 Kurt^[21]通过对大豆突变体的研究提出:病原物的发展和定殖能力与寄主的病状表现无关,但都在病原物的控制之下。本试验选择单基因系为材料,接种不同的叶锈菌小种,组合间表现的防卫反应酶活性变化规律基本一致,但强度有很大差异,依据 Matthias 等的观点,这可能是由于小种 165 对 Lr19 表达的抑制作用较小种 366 强的结果。但是叶锈菌对抗病基因表达的抑制机制还有待深入研究。

过敏性反应是小麦抵抗叶锈菌侵染的有效防卫反应之一,叶锈菌属于活体营养型专化性很强的寄生菌,当它侵染小麦叶片后,如果两者为不亲和组合,寄主侵染点处及其周围细胞通常会发生迅速死亡,这种死亡方式属于植物 PCD (Programed cell death) 范畴^[22],寄主正是通过自身少数细胞的主动死亡限制了病原菌的进一步发育和扩展。本试验中,小麦单基因系 TcLr19 接种叶锈菌小种 366 后形成不亲和组合。图 3 显示,对不同组合在接种后不同时间的组织学观察结果,发生过敏性反应的细胞经染色后呈现亮黄色。从 24 h 时开始,随着侵染时间的延长,叶片产生 HR 的面积逐渐加大,到 96 h 时达到顶峰;而接种 165 的叶片从 24 h 时开始,随着侵染时间的延长,叶片产生 HR 的面积也呈逐渐增加的趋势,但每个时间点的 HR 面积都比 TcLr19-366 组合小。在接种后 96~120 h HR 面积仍然有扩大的趋势。结合叶锈菌在 2 个组合中的扩展情况,我们认为, TcLr19-366 组合中 HR 在早期的表达较 TcLr19-165 组合快而强,所以对叶锈菌的生长起到明显限制作用。

综合上述结果,在小麦与叶锈菌互作过程中,抗病基因表达的防卫反应强度在寄主抵抗叶锈菌侵染中发挥重要作用。这一结论不但对解释小麦与叶锈菌互作表现抗病或感病是适用的,对解释小麦与叶锈菌互作表现不亲和或抗病的不同程度也是适合的。同一寄主材料接种不同叶锈菌小种后为什么抗病基因表达的防卫反应强度会有很大差异,造成这种差异表达的分子机制是否与叶锈菌侵染的信号转导机制有密切关系都将是进一步深入探讨的问题。

参考文献:

- [1] Sutherland M W. The generation of oxygen radicals during host plant responses to infection [J]. *Physiol Mol Plant Pathol*, 1991, 39: 79-93.
- [2] 江昌俊, 余有本. 苯丙氨酸解氨酶的研究进展 [J]. 安

- 徽农业大学学报 2001 28(4):425-430.
- [3] 吴岳轩,曾宝华,王容臣. 杂交稻对白叶枯病菌的诱导抗性与细胞内防御酶关系的初步研究[J]. 植物病理学报,1996 26(2):127-131.
- [4] 何晨阳. 双核丝核菌诱导水稻增强广谱抗病性和防卫酶系活性[J]. 植物病理学报,2001 31(3):208-213.
- [5] 张淑红,高宝嘉,温秀军. 枣疯病过氧化物酶及苯丙氨酸解氨酶的研究[J]. 植物保护,2004 30(5):59-62.
- [6] 王智妍,汪宜萱,刘娟. 在叶锈菌侵染过程中小麦过氧化物酶同工酶的变化[J]. 植物保护学报,1989(2):168-174.
- [7] 祁艳,刘刚,侯春燕,等. 小麦与叶锈菌互作过程中的 H_2O_2 与 HR [J]. 分子细胞生物学报,2008 41(4):245-254.
- [8] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of Microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry,1976 72:248-254.
- [9] Roelf A P. Race specificity and methods of study [M]. The Cereal Rust Vol. I. New York: Academic Press, 1985:131-164.
- [10] Lin Zh, Matt D. Fluorescence from rust fungi: a simple and effective method to monitor the dynamics of fungal growth in planta [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology,2001 59,137-141.
- [11] 黄国红,康振生,朱之堉,等. 小麦叶锈菌在感病寄主上发育的组织病理学和超微结构研究[J]. 植物病理学报,2003 33(1):52-56.
- [12] 王庆梅,王智妍,刘娟,等. 感染叶锈菌的小麦细胞间隙液中激发子的定性及初步分离[J]. 植物生理学报,2000 26(5):427-432.
- [13] Dorey S, Kopp M, Geoffroy P, et al. Hydrogen peroxide from the oxidative burst is neither necessary nor sufficient for hypersensitive cell death induction, phenylalanine ammonia lyase stimulation, salicylic acid accumulation, or scopoletin consumption in cultured tobacco cells treated with elicitor [J]. Plant Physiol,1999 121:163-171.
- [14] Derckel J P, Audran J C, Haye B, et al. Characterization, induction by wounding and salicylic acid and activity against Botrytis cinerea of chitinases and β -1,3-glucanases of ripening grape berries [J]. Physiol Plant, 1998 104:56-64.
- [15] Castaneda P, Perez L M. Calcium ions promote the response of citrus limon against fungal elicitors or wounding [J]. Phytochemistry,1996 42:595-598.
- [16] Ahl Goy P, Felix G, Metraux J P, et al. Resistance to disease in the hybrid *Nicotiana glutinosa* \times *Nicotiana debneyi* associated with high constitutive levels of β -1,3-glucanase, chitinase, peroxidase and polyphenoloxidase [J]. Physiol Mol Plant Pathol,1992 41:11-21.
- [17] Moerschbacher B M, Noll U. Hypersensitive lignification response as the mechanism of non-host resistance of wheat against oat crown rust [J]. Physiol Plant,1990, 78:609-615.
- [18] Montrell S, Shalaka P, Savithramma P D K. Autophagy and plant innate immunity [J]. Cellular Microbiology, 2006(6):899-906.
- [19] 王保通,商鸿生. 小麦高温抗条锈性表达与苯丙氨酸解氨酶及多酚氧化酶活性的关系[J]. 麦类作物学报,2001 21(3):42-45.
- [20] 王冬梅,王智妍,杨秀屏,等. 已知 Lr 基因小麦在叶锈菌侵染过程中 PO 活性及其同工酶的变化[J]. 河北农业大学学报,1994 17(1):1-6.
- [21] Matthias H, Kurt M. Signal and nutrient exchange at biotrophic plant-fungus interfaces [J]. Current Opinion in Plant Biology,2001 4:322-327.
- [22] 白志英,王冬梅,侯春燕,等. 小麦与叶锈菌互作过程中细胞程序性死亡的生化证据[J]. 实验生物学报,2004 37(4):329-332.